

**Células HT-29 MTX E12 | 305801****Información general****Description**

HT-29-MTX-E12 es un subclon de células caliciformes derivado de la línea celular de adenocarcinoma colorrectal humano HT29 mediante selección con metotrexato (MTX), un proceso que induce la diferenciación hacia fenotipos secretores de moco. Entre varios subclones desarrollados a partir de HT29-MTX, el subclón E12 destaca por su sólida formación de monocapas confluentes con uniones estrechas y una capa de moco continua y significativamente gruesa en la superficie apical. Este subclon presenta una mayor proporción de células caliciformes maduras, como demuestran la tinción con azul Alcian, la microscopía electrónica de transmisión (TEM) y la expresión de los genes de mucina MUC1 y MUC2. De hecho, los niveles de ARNm de MUC1 y MUC2 eran sustancialmente superiores en HT-29-MTX-E12 en comparación con otros subclones y células HT29 progenitoras, lo que se correlaciona con un grosor del moco de aproximadamente  $142 \pm 51 \mu\text{m}$ , comparable al entorno intestinal in vivo.

Desde el punto de vista funcional, se ha demostrado que HT-29-MTX-E12 modela las propiedades de barrera de la capa de mucosa intestinal humana, especialmente en la evaluación de la absorción de fármacos lipofílicos. La presencia de una barrera mucosa gruesa reduce significativamente los coeficientes de permeabilidad aparente (Papp) de compuestos lipofílicos como la testosterona y varios barbitúricos en comparación con las células Caco-2 sin mucosa. Por ejemplo, la testosterona mostró una reducción del 43% del Papp en HT-29-MTX-E12, lo que pone de relieve el impacto del moco en la difusión del fármaco. A pesar de tener una barrera epitelial más permeable que las células Caco-2, HT-29-MTX-E12 mantiene su relevancia fisiológica gracias a su capacidad de producción de moco, lo que la convierte en un valioso modelo in vitro para investigar la absorción intestinal de fármacos y la influencia del moco en la permeabilidad.

**Organism** Humano**Tissue** Colon**Disease** Adenocarcinoma de colon**Synonyms** HT29-MTX-E12, MTX-E12**Características****Age** 44 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Caucásico**Cell type** Epitelial**Growth properties** Adherente

**Células HT-29 MTX E12 | 305801****Datos reglamentarios****Citation** HT-29-MTX-E12 (número de catálogo de Cytion 305801)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_G356**Datos biomoleculares****Mutational profile** Mutación: APC, simple, p.Glu853Ter (c.2557G>T), heterocigota (de línea celular parental).Mutación, APC, simple, p.Thr1556Asnfs\*3 (c.4666dupA) (c.4666\_4667insA), heterocigota (de línea celular parental).Mutación, BRAF, simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), heterocigoto (de la línea celular parental).Mutación, PIK3CA, Simple, p.Pro449Thr (c.1345C>A), heterocigoto (de la línea celular parental).Mutación, SMAD4, Simple, p.Gln311Ter (c.931Mutación, TP53, Simple, p.Arg273His (c.818G>A), Homocigoto (de línea celular parental).**Manejo de****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)**Supplements** Suplementar el medio con un 10% de FBS y un 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

## Células HT-29 MTX E12 | 305801

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## Células HT-29 MTX E12 | 305801

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.